



Atty. Dkt. No. 016790-0425

Priority Doc
DRAFTED
11-7-6

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Holger BIRK, et al

Title: METHOD AND INSTRUMENT
FOR ILLUMINATING AN OBJECT

Appl. No.: 09/881,212

Filing Date: 06/15/2001

Examiner: Unassigned

Art Unit: Unassigned

CLAIM FOR CONVENTION PRIORITY

Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

The benefit of the filing dates of the following prior foreign applications filed in the following foreign country is hereby requested, and the right of priority provided in 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed.

In support of this claim, filed herewith are certified copies of said original foreign applications:

- Federal Republic of Germany Patent Application No. DE 100 30 013.8 filed June 17, 2000.
- Federal Republic of Germany Patent Application No. DE 101 15 488.7 filed March 29, 2001.

Respectfully submitted,

Date 8/22/01

By GLL

FOLEY & LARDNER
Washington Harbour
3000 K Street, N.W., Suite 500
Washington, D.C. 20007-5109
Telephone: (202) 672-5426
Facsimile: (202) 672-5399

Glenn Law
Attorney for Applicant
Registration No. 34,371

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



09/821, 2.2
06790/0425

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 30 013.8
Anmeldetag: 17. Juni 2000
Anmelder/Inhaber: Leica Microsystems Heidelberg
GmbH, Heidelberg, Neckar/DE
Bezeichnung: Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop und Beleuchtungseinrichtung für ein Scannmikroskop
IPC: G 02 B, G 02 F

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 07. Juni 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Welne

Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop und Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop. Im Besonderen betrifft die Erfindung

5 eine Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop, das einen Laser und ein optisches Mittel umfasst, das das von dem Laser erzeugte Licht auf eine zu untersuchende Probe abbildet. Das Scanmikroskop kann auch als konfokales Mikroskop ausgestaltet sein.

Des Weiteren betrifft die Erfindung eine Beleuchtungseinrichtung für ein
10 Scanmikroskop.

In der Scanmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl abgerastert. Hierzu werden oft Laser als Lichtquelle eingesetzt. Aus der EP 0 495 930: „Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz“ ist beispielsweise ein Anordnung mit einem einzelnen, mehrere Laserlinien emittierenden Laser
15 bekannt. Derzeit werden hierfür meist Mischgaslaser, insbesondere ArKr-Laser, eingesetzt.

Im Einsatz sind auch Diodenlaser und Festkörperlaser.

Aus der Patentschrift US-A-5,161,053 mit dem Titel „Confocal Microscope“ ist ein konfokales Mikroskop bekannt, bei dem Licht einer externen Lichtquelle
20 mit Hilfe einer Glasfaser zum Strahlengang des Mikroskops transportiert wird und das Ende der Glasfaser als Punktlichtquelle dient, so dass eine mechanische Blende überflüssig wird.

Das Emissionsspektrum von Lasern ist auf einen schmalen Wellenlängenbereich eingegrenzt, so dass zur simultanen Mehrlinienanregung
25 das Licht mehrerer Laser zu einem Beleuchtungsstrahl vereinigt werden muss.

Die als Mehrlinienlaser meist eingesetzten Gaslaser sind sehr aufwendig und teuer. Darüber hinaus sind sie sehr wartungsbedürftig, was den Dauereinsatz bei vielen mikroskopischen Anwendungen erschwert.

Der Erfahrung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Scanmikroskop zu schaffen,

5 das die Probenuntersuchung mit mehreren spektralen Linien ermöglicht, ohne dabei auf den Einsatz vom Mehrlinienlaser angewiesen zu sein.

Die objektive Aufgabe wird gelöst durch eine Anordnung, die dadurch gekennzeichnet ist, dass zwischen dem Laser und dem optischen Mittel ein optisches Bauelement vorgesehen ist, das das vom Laser erzeugte Licht bei 10 einmaligem Durchlauf spektral verbreitert.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop zu schaffen, die weitere spektrale Bereiche zugänglich macht, die bisher nicht adressierbar waren.

Die objektive Aufgabe wird gelöst durch eine Beleuchtungseinrichtung, die

15 dadurch gekennzeichnet ist, dass an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement angebracht ist, das aus photonic-band-gap-material besteht.

Das optische Bauelement in der Form eines „photonic-band-gap-material“ hat den Vorteil, dass durch den optisch nichtlinearen Aufbau der Faser ein kurzer Laserimpuls verbreitert wird und somit ein spektral breites, kontinuierliches

20 Lichtspektrum entsteht. Bei „Photonic-band-gap-material“ handelt es sich um mikrostrukturiertes durchsichtiges Material. Meist durch Zusammenfügen von verschiedenen Dielektrika lässt sich dem resultierenden Kristall eine Bandstruktur für Photonen aufprägen, die an die elektronische Bandstruktur von Halbleitern erinnert.

25 Die Technik wird neuerdings auch bei Lichtleitfasern verwirklicht. Die Fasern werden durch Ausziehen von strukturiert angeordneten Glasrohren hergestellt. Den Fasern liegt eine besondere Struktur zugrunde: In Faserrichtung sind kleine Kanülen frei gelassen, die einen Abstand von etwa 2-3 μm und einen Durchmesser von ca. 1 μm haben und meist mit Luft gefüllt sind. In der Mitte 30 der Faser liegt keine Kanüle vor. Diese Art von Fasern sind als "photon crystal fibres", „holey fibers“ oder „microstructured fibers“ bekannt.

"Photon crystal fibres" können für die Erzeugung einer kontinuierlichen spektralen Verteilung über den gesamten sichtbaren Wellenlängenbereich eingesetzt werden. Hierzu wird das Licht eines Kurzpulsasers in die Faser eingekoppelt. Durch den optisch nichtlinearen Aufbau der Faser verbreitert

5 sich das Frequenzspektrum des Lasers. Es entsteht ein spektral breites, kontinuierliches Lichtspektrum.

Zum Einsatz in der Mikroskopie ist es wichtig, Mittel zur Wellenlängenauswahl und zur Lichtleistungsstabilisierung zu implementieren. Daher lässt sich in vorteilhafter Weise ein solcher Faserlaser mit akusto- oder elektrooptischen, 10 einstellbaren Filtern (AOTF), mit akusto- oder elektrooptischen Deflektoren (AOD), akusto- oder elektrooptischen Strahlteilern (AOBS) kombinieren. Diese können zum einen zur Wellenlängenauswahl als auch zur Ausblendung des Detektionslichtes verwendet werden (unsere deutsche Anmeldung DE 199 06 757 A1: „Optische Anordnung“).

15 Insbesondere in der konfokalen Mikroskopie lässt sich das Faseraustrittsende als Punktlichtquelle nutzen, wodurch die Verwendung einer Anregungsblende überflüssig wird. Bei einer solchen Ausgestaltung wäre es von besonderem Vorteil, das Faserende selbst teilreflektierend zu beschichten, so dass dieser Teilreflektor einen Resonatorenendspiegel bildet.

20 In weiteren Ausführungsformen sind Vorrichtungen zur Kompensation von Lichtleistungsschwankungen vorgesehen. Beispielsweise kann eine Regelschleife zur Lichtleistungsstabilisierung eingebaut werden, die parasitär die Lichtleistung im Strahlengang des Mikroskops misst und beispielsweise durch Variation der Pumplichtleistung oder mit Hilfe eines akusto- oder 25 elektrooptischen Elements die Probenbeleuchtungslichtleistung konstant hält. Zu diesem Zweck könnten auch LCD-Abschwächer verwendet werden.

Ein weiterer Vorteil der Erfindung ist, wenn die Beleuchtungseinrichtung bereits entsprechend gestaltet ist, dass sie mehrere spektrale Bereiche zur Beleuchtung liefert. Der Laser, der die Beleuchtungseinrichtung für ein 30 Scanmikroskop darstellt, hat an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement befestigt. Das optische Bauelement besteht aus photonic-band-gap-material. Ferner kann das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser

ausgestaltet sein.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

Fig. 1 eine erfindungsgemäße Anordnung mit einem
5 Konfokalmikroskop,

Fig. 2 eine Anordnung, bei der auf ein Beleuchtungsspinhole
verzichtet wurde, und

Fig. 3 eine Anordnung mit Lichtleistungsstabilisierung.

Fig. 1 zeigt ein Konfokalmikroskop, das ein optisches Bauelement 3 zur
10 Aufweitung eines von einem Pulslaser 1 erzeugten Laserimpulses verwendet. Der Pulslaser 1 definiert einen gepulsten Laserstrahl 2, der durch das optische Bauelement 3 geleitet wird. Das optische Bauelement 3 ist ein „photonic-band-gap-material. Aus dem optischen Bauelement 3 tritt ein spektral breitbandiges Beleuchtungslicht 4 aus, das von einer ersten Optik 5 auf ein
15 Beleuchtungsspinhole 6 abgebildet wird und dann auf einen Strahlteiler 7 trifft. Vom Strahlteiler 7 gelangt das spektral breitbandige Beleuchtungslicht 4 zu einer zweiten Optik 8, die einen parallelen Lichtstrahl 4a erzeugt, der auf einen Scanspiegel 9 trifft. Dem Scanspiegel 9 sind mehrere Optiken 10 und 11 nachgeschaltet, die den Lichtstrahl 4a formen. Der Lichtstrahl 4a gelangt zu
20 einem Objektiv 12, von dem er auf eine Probe 13 abgebildet wird. Das von der Probe reflektierte oder ausgesendete Licht definiert einen Beobachtungsstrahlengang 4b. Das Licht des Beobachtungsstrahlengang 4b tritt abermals durch die zweite Optik 8 und wird auf ein Detektionsspinhole 14 abgebildet, das vor einem Detektor 15 sitzt. Durch das optische Bauelement 3
25 ist es möglich, das für die Untersuchung der Probe 13 notwendige Laserlicht entsprechend dem gewünschten Spektrum zu erzeugen.

Das in Fig. 2 dargestellte Ausführungsbeispiel zeigt ein Konfokalmikroskop, bei dem auf das Beleuchtungsspinhole 6 verzichtet wurde. Alle Elemente, die mit den Elementen aus Fig. 1 übereinstimmen, sind mit dem gleichen
30 Bezugszeichen bezeichnet. Bei diesem Ausführungsbeispiel ist an Stelle der ersten Optik 5 ein AOTF 16 (acousto optical tunable filter) eingesetzt, der mit

einer entsprechenden AOTF-Ansteuerung 17 verbunden ist. Da das optische Bauelement 3 ein breitbandiges Beleuchtungslicht 4 erzeugen kann, ist es notwendig, Mittel zur Wellenlängenauswahl und Lichtleistungsstabilisierung vorzusehen. In vorteilhafter Weise kann man akusto- oder elektrooptisch

5 einstellbare Filter (AOTF) mit akusto- oder elektrooptischen Deflektoren (AOD) und akusto- oder elektrooptischen Strahlteilern (AOBS) kombinieren. Diese können zum einen zur Wellenlängenauswahl als auch zur Ausblendung des Detektionslichtes verwendet werden. Dem AOTF 16 ist ferner ein Strahlumpf 18 zugeordnet, der die nicht verwendeten spektralen Anteile der

10 Beleuchtungslicht fängt, um unnötige Störungen des Scanmikroskops zu vermeiden.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung ist in Fig. 3 dargestellt. Hier ist an Stelle des optischen Bauelements 3 eine Lichtleitfaser 20 verwendet, die aus dem photonic-band-gap-material besteht. Vom Pluslaser 1 wird der gepulste

15 Laserstrahl 2 über eine Optik 19 in ein Eintrittsende 20a der Lichtleitfaser 20 eingekoppelt. Da die Lichtleitfaser 20 aus dem photonic-band-gap-material aufgebaut ist, tritt aus einem Austrittsende 20b ein spektral verbreiterter Laserimpuls aus, der über eine Optik 21 ausgekoppelt wird. Bevor der spektral verbreiterte Laserimpuls auf das Beleuchtungsspinhole 6 trifft, wird

20 eine spektrale Filterung vorgenommen. Dazu sind mehrere Farbfilter 24 auf einem Revolver 23 angeordnet. Über einen Motor 22 ist der Revolver 23 drehbar, so dass die entsprechenden Farbfilter 24 in den Strahlengang eingebracht werden können. Ebenso ist eine lineare Anordnung der Farbfilter 24 denkbar, dabei werden die Farbfilter 24 mittels einer Linearbewegung in

25 einen Beleuchtungsstrahlengang 50 verfahren. Der Beleuchtungsstrahlengang 50 nach dem Beleuchtungsspinhole 6 ist mit dem Strahlengang aus Fig. 1 vergleichbar. Wie bereits in Fig. 1 erwähnt, lenkt der Strahlteiler 7 das Licht auf den Scanspiegel 9. Ein Teil des Licht tritt durch den Strahlteiler 7 hindurch und definiert einen Verluststrahlengang 50a. Dieser Anteil des Lichts ist für

30 die Beobachtung oder Messung verloren. Aus diesem Grunde ist im Verluststrahlengang 50a ein Detektor 25 vorgesehen, der das Verlustlicht bestimmt und daraus eine elektronische Größe ermittelt, die mittels einer Leitung 30 an eine Regelungselektronik 26 geleitet wird. Die

Regelungselektronik 26 ist über eine weitere Leitung 32 mit dem Pulslaser 1 verbunden. Über die Leitung 32 regelt die Regelungselektronik 26 die Intensität des Pulslasers 1 in der Weise, dass an der Probe 13 immer eine konstante Lichtleistung auftrifft. Beispielsweise kann eine Regelschleife zur

5 Lichtleistungsstabilisierung derart vorgesehen sein, dass sie parasitär die Lichtleistung im Strahlengang des Mikroskops misst und beispielsweise durch Variation der Pumplichtleistung oder mit Hilfe eines akusto- oder elektrooptischen Elements die Probenbeleuchtungslichtleistung konstant hält. Zu diesem Zweck könnten auch LCD-Abschwächer verwendet werden.

10 Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

Bezugszeichenliste

- 1 Pulslaser
- 2 Gepulster Laserstrahl
- 5 3 optisches Bauelement
- 4 Spektral breitbandiges Beleuchtungslicht
- 4a Lichtstrahl
- 4b Beobachtungsstrahlengang
- 5 Optik
- 10 6 Beleuchtungsspinhole
- 7 Strahlteiler
- 8 Optik
- 9 Scanspiegel
- 10 Optik
- 15 11 Optik
- 12 Objektiv
- 13 Probe
- 14 Detektionspinhole
- 15 Detektor
- 20 16 AOTF (acousto optical tunable filter)
- 17 AOTF-Ansteuerung
- 18 Strahlumpf
- 19 Optik
- 20 photonic-band-gap-Lichtleitfaser
- 25 20a Eintrittsende
- 20b Austrittsende
- 21 Optik
- 22 Motor
- 23 Revolver
- 30 24 Farbfilter
- 25 Detektor
- 26 Regelungselektronik
- 30 Leitung
- 32 Leitung

- 50 Beleuchtungsstrahlengang
- 50a Verluststrahlengang

Patentansprüche

1. Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop, das einen Laser (1) und ein optisches Mittel (12) umfasst, das das von dem Laser (1) erzeugte Licht auf eine zu untersuchende Probe (13) abbildet, **dadurch gekennzeichnet**, dass zwischen dem Laser (1) und dem optischen Mittel (12) ein optisches Bauelement (3, 20) vorgesehen ist, das das vom Laser (1) erzeugte Licht bei einmaligem Durchlauf spektral verbreitert.
2. Scanmikroskop nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass das optische Bauelement (3, 20) aus photonic-band-gap-material besteht.
3. Scanmikroskop nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20) ausgestaltet ist.
- 15 4. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Laser (1) ein Pulslaser ist.
5. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass dem optischen Bauelement (3, 20) Mittel (16, 18 und/oder 23, 24) zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes 20 mindestens einer Wellenlänge oder mindestens eines Wellenlängenbereichs nachgeordnet sind.
6. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes mindestens ein spektral selektiver Filter (24) vorgesehen ist.

7. Scanmikroskop nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Filter ein dichroitischer Filter (24) ist.
8. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes
- 5 ein akustooptischer Filter (16) (AOTF: acousto optical tunable filter) vorgesehen ist.
9. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes ein akustooptischer Deflektor (AOD: acousto optical deflector) vorgesehen ist.
10. 10. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes ein LCD-Abschwächer vorgesehen ist.
11. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass Mittel (25, 26) zur Lichtleistungsstabilisierung
- 15 vorgesehen sind.
12. Scanmikroskop nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass zur Lichtleistungsstabilisierung ein Regelkreis vorgesehen ist.
13. Scanmikroskop nach einem der vorherigen Ansprüche,
- 20 **dadurch gekennzeichnet**, dass das Scanmikroskop ein Konfokalmikroskop ist.
14. Scanmikroskop nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Austrittsende (20b) der Lichtleitfaser (20) als Beleuchtungsblende dient.
- 25 15. Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop mit einem Laser (1), der eine Lichtaustrittsöffnung umfasst, **dadurch gekennzeichnet**, dass an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement (3, 20) angebracht ist, das aus photonic-band-gap-material besteht.
16. Beleuchtungseinrichtung nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet**,
- 30 dass das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20) ausgestaltet ist.

17. Beleuchtungseinrichtung nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Austrittsende (20b) der Lichtleitfaser (20) als Beleuchtungsblende dient.
18. Beleuchtungseinrichtung nach einem der Ansprüche 15
5 bis 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Laser (1) ein Pulslaser ist.

Zusammenfassung

Die Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop besteht aus einem Laser (1) und einem optischen Mittel (12), das das von dem Laser (1) erzeugte Licht auf eine zu untersuchende Probe 5 abbildet. Zwischen dem Laser (1) und dem optischen Mittel (12) ist ein optisches Bauelement (3, 20) vorgesehen, das das vom Laser (1) erzeugte Licht bei einmaligem Durchlauf spektral verbreitert. Das optische Bauelement (3, 20) besteht aus photonic-band-gap-material. Besonders vorteilhaft ist es, wenn das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20) ausgestaltet ist.

10

Fig. 1

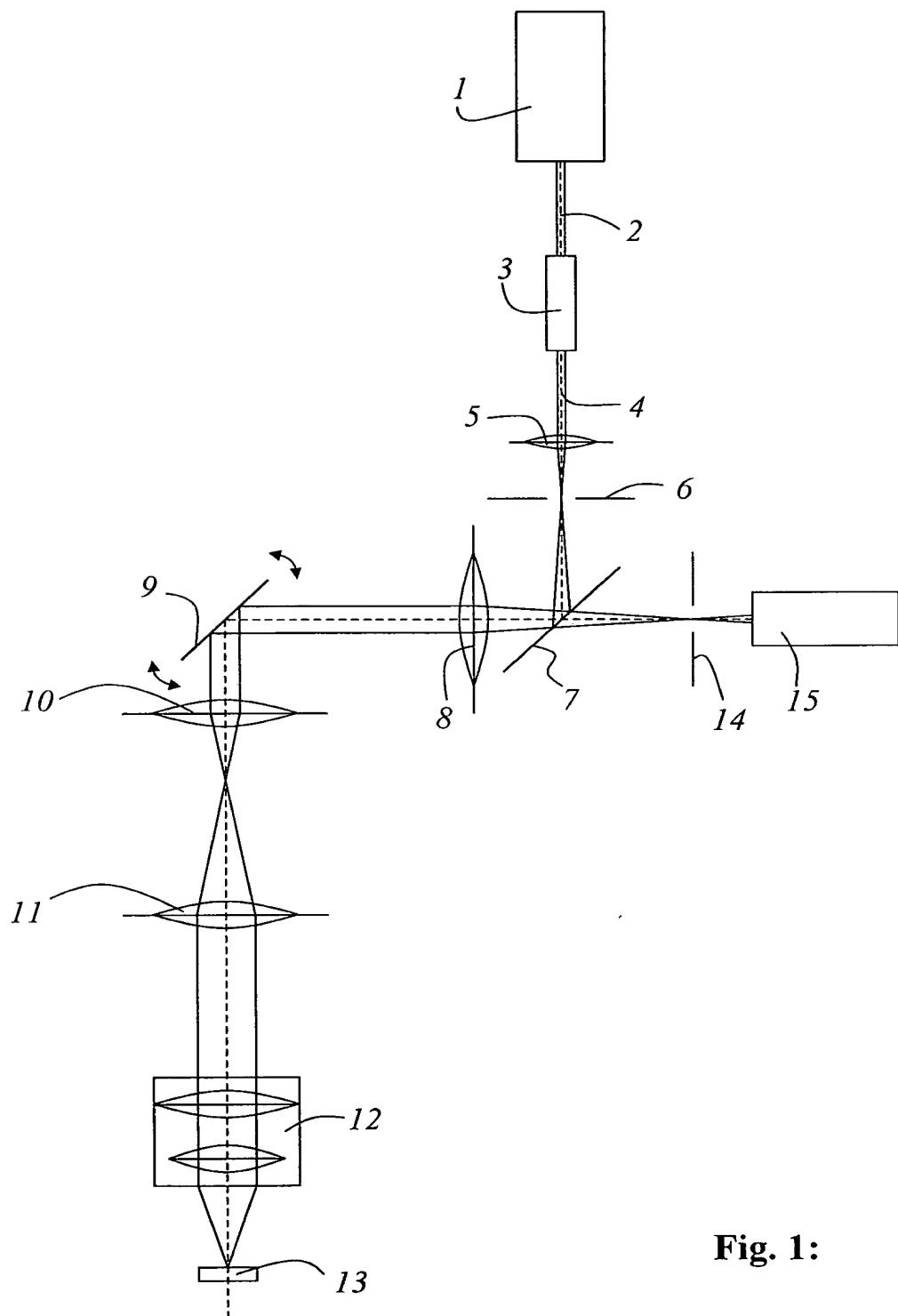


Fig. 1:

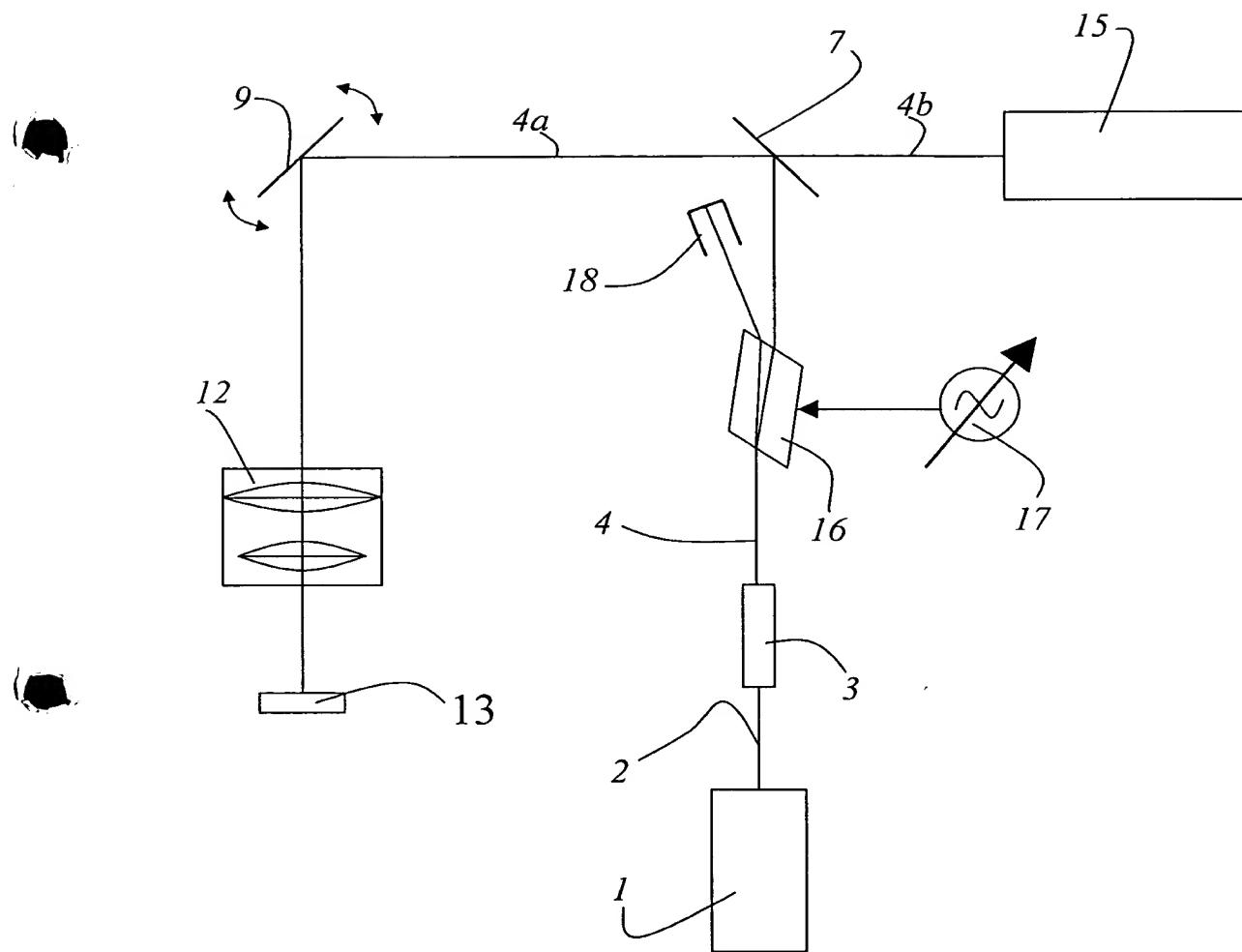


Fig. 2:

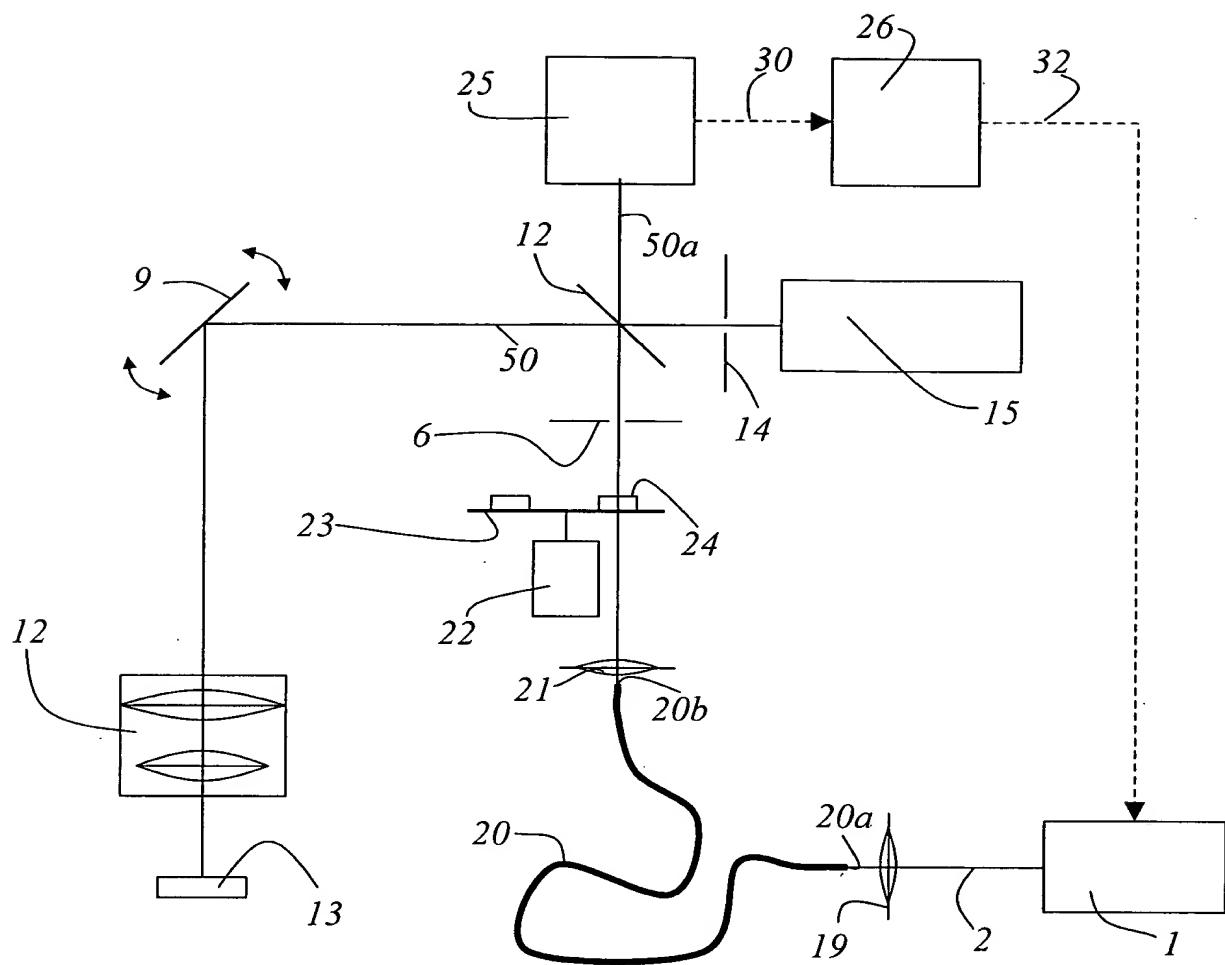


Fig. 3: